معرفی پروتکل استاندارد برای غنی سازی ناپلی آرتمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) با روغن کانولا

سروه قادرپور[1]، ناصر آق[2]، فرزانه نوری[2]، اسلام احمدیان[1]
۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه
۲- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، پژوهشکده آرتمیا و آبزیان دانشگاه ارومیه
نویسنده مسئول: srwa_gh@yahoo.com

چکیده:

در این مطالعه، اثرات غنی سازی ناپلی *آرتمیا فرانسیسکانا* با روغن کانولا در سه غلظت و با سه تراکم بر بقا، طول کل و میزان اسیدهای چرب ناپلی *آرتمیا فرانسیسکانا* با هدف تعیین غلظت، تراکم و زمان اپتیمم برای حداکثر بقاء و پروفیل اسیدهای چرب و حداقل طول کل مورد ارزیابی قرار گرفت. سیست *آرتمیا فرانسیسکانا* طبق روش استاندارد (Sorgeloos, 1986) تخم گشایی شدند و ناپلیوس های حاصله با تراکم های ۵۰۰۰۰، ۱۰۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰۰ ناپلی در لیتر به زوک های هفت لیتری منتقل شدند. امولسیون روغن کانولا در غلظت های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر در دو زمان صفر و ۱۲ ساعت از شروع غنی سازی به ظروف غنی سازی حاوی آرتمیا افزوده شد. نمونه برداری ناپلیوس ها در زمانهای ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت بعد از غنی سازی جهت اندازه گیری طول کل، درصد بقا و میزان اسیدهای چرب انجام شد. نتایج آنالیزها نشان داد که غنی سازی آرتمیا با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن کانولا تحت تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر به مدت ۱۸ ساعت، بهترین تیمار بود. ناپلی آرتمیا غنی شده تحت این تیمار از لحاظ میزان اسیدهای چرب لینولنیک و لینولئیک و درصد بقاء در حد ماکزیمم و از نظر رشد از حداقل طول برخوردار بودند.

واژگان کلیدی: ***آرتمیا فرانسیسکانا*، غنی سازی، روغن کانولا، اسیدهای چرب.**

مقدمه

یکی از مشکلات موجود در پرورش ماهیان (از جمله قزل آلای رنگین کمان) پرورش در مراحل اولیه یا نوزادی است که دارای رشد بطئی همراه با تلفات بالا می باشد (Girri *et al.*, 2002). در پرورش لارو ماهیان و سخت پوستان، اصلی ترین مسئله تامین غذایی مناسب با کیفیت بالا می‌باشد که به راحتی توسط لارو ماهی پذیرفته شده و هضم شود (Kim *et al.*, 1996). به دلیل عدم تناسب اندازه دهان لارو و ذرات غذایی، همچنین کفاف ندادن نیازهای غذایی لاروها با استفاده از غذای کنسانتره، استفاده از غذای کنسانتره در مرحله لاروی برخی از گونه های آبزی امکان پذیر نمی‌باشد در حالی‌که استفاده از غذای زنده در پرورش لارو آبزیان مختلف با رژیم غذایی طبیعی آن ها همخوانی دارد و بیشتر قابل پذیرش و استفاده است (Agh, 2002). پرورش موفقیت آمیز آبزیان به قابلیت دسترسی به غذای مناسب بستگی دارد تا بتواند رشد و خصوصاً سلامتی را در مراحل نوزادی و لاروی تضمین نماید (Girri *et al.*, 2002).

ناپلیوس آرتمیا به دلیل اندازه کوچک در زمان تخم گشایی و کیفیت بالای غذایی می تواند به عنوان غذای آغازین بسیاری از گونه های ماهیان مورد استفاده قرار گیرد (Sorgeloos *et al.*, 2001). با وجود کیفیت بالای غذایی آرتمیا، میزان اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در آنها پایین است (Akbari *et al.*, 2008). ویژگی تغذیه ای آرتمیا به عنوان فیلتر کننده غیرانتخابی، این امکان را فراهم می‌آورد تا بتوان آرتمیا را با مواد مختلف از جمله اسیدهای چرب ضروری غنی سازی کرد و به لارو

ماهی یا سخت‌پوستان پرورشی انتقال داد. غنی سازی آرتمیا با اسیدهای چرب ضروری می تواند عوامل مختلفی نظیر رشد، بقا و مقاومت لارو را تحت تاثیر قرار دهد و باعث افزایش تولیدات آبزی پروری شود (Van Stappen, 1996).

با توجه به نقش استفاده از آرتمیای غنی سازی شده با روغن و امولسیون های حاوی اسیدهای چرب در کاهش تلفات و بهبود رشد لارو ماهی و سخت پوستان و اهمیت جایگزینی روغن ها و امولسیون های گران قیمت وارداتی با منابع داخلی، در این پژوهش حاضر سعی شد روش استاندارد برای غنی سازی ناپلی *آرتمیا فرانسیسکانا* با روغن کانولا بومی ارائه شود و اهمیت این نوع غنی سازی در تغذیه لارو ماهیان آب شیرین مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش کار

تخم گشایی و ضدعفونی سیست آرتمیا

سیست های *آرتمیا فرانسیسکانا* از بانک سیست پژوهشکده آرتمیا دانشگاه ارومیه تهیه و برای این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. لایه کوریون سیست ها به روش شیمیایی و با به کار گیری هیپوکلریت سدیم طی فرآیند کپسول زدایی جدا شد. تخم گشایی سیست های کپسول زدایی شده در زوک های شیشه‌ای هفت لیتری با استفاده از آب رقیق و اتوکلاو شده دریاچه ارومیه با شوری ۳۵ ppt و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد و تحت هوادهی شدید انجام پذیرفت. بعد از ۲۱ ساعت ناپلیوس‌های تازه تخم گشایی شده با استفاده از رفتار نورگرایی مثبت، از سیست های تخم گشایی نشده جدا و با استفاده از صافی با چشمه ۱۵۰ میکرون، با آب شیر شستشو و به زوک تمیز حاوی آب تازه ۳۵ ppt منتقل شدند و به خوبی هوادهی شدند تا همگن شوند. سپس ناپلیوس ها شمارش شده و در سه تراکم ۵۰،۰۰۰، ۱۰۰،۰۰۰ و ۲۰۰،۰۰۰ ناپلی در هر لیتر به زوک های ۷ لیتری منتقل شدند.

تهیه محلول غنی‌سازی

برای تهیه سوسپانسیون غنی سازی ابتدا لسیتین، روغن و آب به ترتیب با نسبت ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی لیتر درون بشر توسط همزن همزده شد تا گلبول های ریز چربی بین ۱۰ الی ۳۰ میکرون تشکیل شوند. سپس برای جلوگیری از اکسید شدن چربی، مقداری گاز ازت به داخل سوسپانسیون تهیه شده تزریق و درب آن با پارافیلم محکم بسته شد و تا موقع استفاده در داخل یخچال نگهداری گردید.

غنی سازی ناپلی آرتمیا با روغن کانولا

زوک های شیشه ای ۷ لیتری برای این منظور مورد استفاده قرار گرفت. به هر کدام از زوک ها آب شور ۳۵ ppt اتوکلاو شده افزوده شد. زوک ها درون یک آکواریوم قرار گرفتند که دمای آب درون آکواریوم توسط هیترهای آکواریوم در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد تنظیم شد. هوادهی زوک ها توسط لوله های پلاستیکی متصل به شیلنگ هوادهی انجام گرفت و برای جلوگیری از آلوده شدن آب درون زوک ها از طریق هوای بیرون، درب زوک ها محکم بسته شدند.

ناپلیوس ها در سه تراکم ۵۰،۰۰۰، ۱۰۰،۰۰۰ و ۲۰۰،۰۰۰ با سه غلظت ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم روغن کانولا در لیتر غنی‌سازی شدند. اولین دز سوسپانسیون غنی سازی در زمان صفر (بلافاصله بعد از انتقال ناپلیوس ها به زوک های غنی سازی)، و دومین دز ۱۲ ساعت بعد از شروع غنی سازی به زوک ها افزوده شدند. نمونه برداری‌ها برای بررسی میزان بازماندگی، رشد و اسیدهای چرب در ۳ زمان (۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت بعد از شروع غنی سازی) با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد.

محاسبه میزان بقاء و طول کل

با استفاده از یک سمپلر دقیق تعداد ۱۰ نمونه ۲۵۰ میکرولیتری از هر زوک در زمان های ۶، ۱۲ و

۱۸ ساعت برداشته شد و به داخل میکروپلیت های ۲۴ خانه منتقل گردید و سپس درصد بقای آن ها در زمان مورد نظر محاسبه شد. همچنین در زمان های فوق الذکر تعداد ۲۰ عدد ناپلی زنده به طور تصادفی از هر زوک جدا شد و طول کل آن ها با استریومیکروسکوپ مجهز به لوله رسم و دستگاه Digitizer اندازه گیری شد.

محاسبه میزان اسیدهای چرب

در سه زمان مورد نظر از هر زوک به میزان ۰/۵ گرم ناپلی (معادل ۵۰۰۰۰ ناپلی) نمونه برداری شد و بعد از شستشو با آب شیر به درون میکروتیوب منتقل و تا زمان آنالیز در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای تعیین پروفیل و مقدار اسیدهای چرب، ابتدا متیل استرهای اسیدهای چرب با استفاده از روش متیل استریفیکاسیون مستقیم (Lepage and Roy, 1984)، استخراج شدند. آنالیز نمونه ها توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Agilent technologies 7890A، ساخت آمریکا) انجام گرفت.

میزان اسیدهای چرب اشباع SFA روغن کانولا طبق برچسب کارخانه (شرکت فرآورده های روغنی Sirco)، ۸-۶٪ و اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه MUFA ۶۹-۵۶٪ و اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه PUFA ۳۳-۲۵٪ اعلام شده است. در جدول ۱ نام اسیدهای چرب مهم و علامت اختصاری آن ها ارائه شده است.

جدول ۱. معرفی برخی از اسیدهای چرب با علامت اختصاری

اسیدهای چرب	علامت اختصاری
آراشیدونیک اسید	ARA
ایکوزاپنتانوئیک اسید	EPA
دوکوزاهگزانوئیک اسید	DHA
لینوئیک اسید	LA
لینولنیک اسید	ALA
میزان اسیدهای چرب اشباع	SFA
میزان اسیدهای چرباغیراشباع با یک پیوند دوگانه	MUFA
میزان اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه	PUFA

تذکر: واحد همه اسیدهای چرب در جدول بالا میلی گرم در گرم وزن تر ناپلی است.

آنالیز آماری

قبل از مقایسه میانگین ها، ابتدا نرمال بودن داده ها به کمک آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی و یکسان سازی شد. برای تجزیه و تحلیل آماری، از نرم افزار SPSS (version 16) به روش آنالیز واریانس دوطرفه (Multivariate) استفاده شد و مقایسه میانگین داده ها با کمک آزمون دانکن (Duncan test) صورت گرفت. میزان اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ تعیین گردید.

نتایج

نتایج مربوط به تاثیر غنی سازی *آرتمیا فرانسیسکانا* بر بقاء و طول کل تحت تاثیر هر سه فاکتور تراکم، زمان و غلظت در همه تیمارها در جدول ۲ نشان داده شده است. همچنین نتایج مربوط به میزان اسیدهای چرب بلند زنجیره (LA، ALA، ARA، EPA و DHA) تحت تاثیر هر سه فاکتور

در جدول ۳ آمده است. نتایج حاصل از داده های مربوط به مجموع اسیدهای چرب (SFA، MUFA، PUFA، TFA) در جدول ۴ و نتایج مربوط به PUFA (n-6) و PUFA (n-3) در جدول ۵ ارائه شده است.

جدول ۲ نتایج حاصل از آنالیز داده های مربوط به بقاء و طول کل را تحت تاثیر هر سه فاکتور تراکم ناپلی، مدت زمان غنی سازی و غلظت روغن کانولا نشان می دهد. کمترین میزان طول کل در تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ و غلظت روغن ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی سازی دیده شد که با تیمارهای با تراکم ۲۰۰۰۰۰ و غلظت‌های روغن ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳، تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت روغن ۰/۱ و تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت روغن ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی سازی تفاوت معنی داری ندارد (P> ۰/۰۵) ولی با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری پیدا می‌کند (P< ۰/۰۵).

همچنین جدول ۲ نشان می دهد که بیشترین میزان بقاء مربوط به تیمارهای با تراکم ۲۰۰۰۰۰ در هرسه غلظت روغن به مدت ۶ ساعت غنی سازی و غلظت ۰/۱ همین تراکم به مدت ۱۲ ساعت، تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت و تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ و ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی سازی می باشد که با تیمارهای با تراکم ۲۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت، تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت های ۰/۱ و ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت و همین تراکم با غلظت های ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت و تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۶ و ۱۲ ساعت و همین تراکم با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت غنی سازی، اختلاف معنی داری ندارند (P> ۰/۰۵) ولی با بقیه تیمارها اختلاف معنی دار یدارند (P < ۰/۰۵).

جدول ۳ نشان می‌دهد که بیشترین میزان LA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت روغن ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی است که با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارد (P< ۰/۰۵). کمترین میزان LA مربوط به تیمار شاهد است که با تیمار با تراکم ۲۰۰۰۰۰ و غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی سازی تفاوت معنی داری ندارد (P> ۰/۰۵) اما با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارد (P< ۰/۰۵).

بیشترین میزان ALA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی می باشد که با تراکم ۵۰۰۰۰ و غلظت ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت تفاوت معنی داری ندارد (P< ۰/۰۵) ولی با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارد (P< ۰/۰۵). همچنین کمترین میزان ALA در تیمار شاهد و تراکم ۲۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت، تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر در زمان های ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت، تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ و ۱۲ ساعت و همین تراکم با غلظت ۰/۲ به مدت ۶ ساعت غنی سازی مشاهده شد (جدول ۳).

همچنین جدول ۳ نشان می دهد که بیشترین میزان ARA مربوط به تیمار شاهد است که با تراکم ۵۰۰۰۰، ۱۰۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰۰ به ترتیب با غلظت های ۰/۳، ۰/۳ و ۰/۱ گرم در لیتر در زمان های ۱۸، ۶ و ۶ ساعت غنی سازی و تراکم ۲۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی تفاوت معنی داری ندارد (P> ۰/۰۵) ولی با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارد (P< ۰/۰۵). کمترین میزان ARA نیز در آرتمیا های غنی شده با تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت دیده شد.

بیشترین میزان EPA در تیمار شاهد مشاهده شد که با تیمارهای با تراکم ۲۰۰۰۰۰ با هر سه مقدار غلظت روغن به مدت ۶ ساعت و تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی سازی تفاوت معنی داری ندارد (P> ۰/۰۵) اما با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارد (P< ۰/۰۵). حداکثر مقدار DHA مربوط به تراکم ۲۰۰۰۰۰ با غلظت

۰/۱ به مدت ۶ ساعت است که با تیمار شاهد تفاوت معنی داری ندارد (P< ۰/۰۵) ولی با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارد (P< ۰/۰۵) (جدول ۳).

نتایج آنالیزهای آماری نشان می‌دهد که حداکثر مقدار SFA در تیمارهای با تراکم ۱۰۰۰۰۰ و ۵۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به ترتیب به مدت ۶ و ۱۸ ساعت غنی سازی وجود دارد که با تیمار شاهد، تراکم ۲۰۰۰۰۰ در هر سه غلظت به مدت ۶ ساعت و در غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت، تراکم ۵۰۰۰۰ در غلظت های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر به ترتیب به مدت ۶، ۱۸ و ۱۲ ساعت غنی سازی، تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ و ۰/۲ گرم در لیتر به ترتیب به مدت ۶ ساعت و همین تراکم با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت غنی سازی تفاوت معنی دار نداشت (P> ۰/۰۵) اما با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارند (P< ۰/۰۵). حداقل مقدار SFA نیز مربوط به تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی است (جدول ۴، ص ۹).

بیشترین میزان MUFA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت روغن ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی است که با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری دارد (P< ۰/۰۵). کمترین مقدار MUFA مربوط به غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به ترتیب در زمان های ۱۲ و ۱۸ ساعت با تراکم ۲۰۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ می باشد (جدول ۴).

بیشترین میزان PUFA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت روغن ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی است که با بقیه تیمارها تفاوت معنی دار دارد (P< ۰/۰۵). کمترین میزان PUFA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ به ترتیب با غلظت کانولا ۰/۲ و ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ و ۱۸ ساعت است (جدول ۴).

بیشترین میزان TFA نیز در تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت روغن ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی دیده شد که با بقیه تیمارها تفاوت معنی دار دارد (P< ۰/۰۵). کمترین مقدار TFA را می توان در تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت کانولا ۰/۱ به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی مشاهده کرد (جدول ۴).

جدول ۵ نشان می دهد که بیشترین میزان (n-6)PUFA مربوط به تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت روغن ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی است که با بقیه تیمارها تفاوت معنی دار دارد (P< ۰/۰۵). کمترین مقدار (n-6)PUFA در تیمار شاهد مشاهده شد.

همچنین جدول ۵ نشان می دهد که بیشترین میزان (n-3)PUFA در تیمار شاهد دیده شد که با تراکم ۲۰۰۰۰۰ در هر سه غلظت روغن به مدت ۶ ساعت و غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت، تراکم ۱۰۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت، تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت های ۰/۲ و ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی تفاوت معنی دار ندارد (P> ۰/۰۵) ولی با بقیه تیمارها تفاوت معنی دار دارد (P< ۰/۰۵). از طرف دیگر کمترین میزان (n-3)PUFA در تیمار با تراکم ۱۰۰۰۰۰ و غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی سازی دیده شد.

جدول ۲. درصد بقا و طول کل (Mean±S.E) *آرتمیا فرانسیسکانا* غنی شده تحت ۳ تراکم (ناپلی در لیتر) و ۳ غلظت روغن کانولا (گرم در لیتر) و ۳ مدت زمان غنی سازی (ساعت)

تراکم (ناپلیوس/ لیتر)	غلظت روغن کانولا (گرم / لیتر)	مدت زمان غنی سازی (ساعت)	طول کل (میلی متر)		بقا (٪)	
			میانگین	S.E	میانگین	S.E
۲۰۰۰۰۰	۰/۱	۶	۰/۷۲۳^{hi}	۰/۰۱۲	۹۸/۸۷^{a}	۰/۱۴
۲۰۰۰۰۰	۰/۲	۶	۰/۷۳۳^{ghi}	۰/۰۱۵	۹۸/۸۴^{a}	۰/۵۱
۲۰۰۰۰۰	۰/۳	۶	۰/۷۳۷^{ghi}	۰/۰۰۷	۹۹/۲۷^{a}	۰/۱۸
۲۰۰۰۰۰	۰/۱	۱۲	۰/۷۹۷$^{b-e}$	۰/۰۲۰	۹۷/۵۲^{a}	۰/۱۳
۲۰۰۰۰۰	۰/۲	۱۲	۰/۷۹۷$^{b-e}$	۰/۰۰۷	۹۶/۲۳^{ab}	۱/۷۷
۲۰۰۰۰۰	۰/۳	۱۲	۰/۸۲۰^{ab}	۰/۰۰۶	۹۵/۳۵^{abc}	۲/۳۴
۲۰۰۰۰۰	۰/۱	۱۸	۰/۸۵۰^{a}	۰/۰۱۷	۸۵/۵۵^{de}	۱/۴۲
۲۰۰۰۰۰	۰/۲	۱۸	۰/۸۰۳^{bcd}	۰/۰۱۸	۸۵/۲۰^{def}	۶/۲۹
۲۰۰۰۰۰	۰/۳	۱۸	۰/۸۱۰^{bc}	۰/۰۲۵	۸۴/۳۵^{ef}	۷/۳۲
۱۰۰۰۰۰	۰/۱	۶	۰/۷۲۷^{hi}	۰/۰۰۹	۹۶/۷۳^{ab}	۱/۶۵
۱۰۰۰۰۰	۰/۲	۶	۰/۷۵۰^{fgh}	۰/۰۰۶	۹۸/۶۶^{a}	۰/۱۶
۱۰۰۰۰۰	۰/۳	۶	۰/۷۴۷^{fgh}	۰/۰۱۸	۹۵/۹۵^{abc}	۲/۰۲
۱۰۰۰۰۰	۰/۱	۱۲	۰/۸۰۳^{bcd}	۰/۰۰۹	۸۹/۱۱^{bcde}	۱/۱۹
۱۰۰۰۰۰	۰/۲	۱۲	۰/۷۷۳$^{c-g}$	۰/۰۱۴	۹۲/۸۸$^{a-d}$	۱/۹۳
۱۰۰۰۰۰	۰/۳	۱۲	۰/۸۰۷^{bc}	۰/۰۰۹	۹۱/۵۳$^{a-e}$	۱/۷۶
۱۰۰۰۰۰	۰/۱	۱۸	۰/۷۹۷$^{b-e}$	۰/۰۰۹	۶۳/۳۷^{gh}	۰/۰۴
۱۰۰۰۰۰	۰/۲	۱۸	۰/۷۹۷$^{b-e}$	۰/۰۰۳	۶۷/۰۶^{g}	۳/۸۴
۱۰۰۰۰۰	۰/۳	۱۸	۰/۸۰۰$^{b-e}$	۰/۰۱۵	۶۶/۰۸^{g}	۲/۵۶
۵۰۰۰۰	۰/۱	۶	۰/۷۰۳^{i}	۰/۰۰۳	۹۸/۴۹^{a}	۰/۷۵
۵۰۰۰۰	۰/۲	۶	۰/۷۳۳^{ghi}	۰/۰۰۳	۹۴/۳۷^{abc}	۰/۶۸
۵۰۰۰۰	۰/۳	۶	۰/۷۴۳^{fgh}	۰/۰۰۳	۹۹/۲۲^{a}	۰/۳۹
۵۰۰۰۰	۰/۱	۱۲	۰/۷۶۰$^{e-h}$	۰/۰۰۶	۸۷/۷۲^{cde}	۲/۰۱
۵۰۰۰۰	۰/۲	۱۲	۰/۷۶۳$^{d-h}$	۰/۰۰۹	۹۲/۶۷$^{a-d}$	۱/۳۹
۵۰۰۰۰	۰/۳	۱۲	۰/۷۸۰$^{b-f}$	۰/۰۰۶	۹۴/۹۴^{abc}	۰/۳۷
۵۰۰۰۰	۰/۱	۱۸	۰/۷۹۳$^{b-e}$	۰/۰۱۳	۵۸/۳۳^{h}	۳/۶۵
۵۰۰۰۰	۰/۲	۱۸	۰/۷۹۷$^{b-e}$	۰/۰۱۲	۶۹/۵۹^{g}	۱/۱۶
۵۰۰۰۰	۰/۳	۱۸	۰/۸۱۰^{bc}	۰/۰۱۷	۷۷/۸۴^{f}	۲/۱۰

تذکر۱: حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد.

تذکر ۲: در صورتی که تعداد حروف معنی دار بیش از سه تا باشد، اولین و آخرین حرف معنی دار ذکر شده است.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که بقای ناپلی *آرتمیا فرانسیسکانا* به طور معنی داری تحت تاثیر سه عامل غلظت ماده غنی سازی، تراکم ناپلی و مدت زمان غنی سازی قرار می گیرد. مرگ و میر آرتمیا با افزایش مدت زمان غنی سازی افزایش می یابد که می تواند به علت افزایش بار باکتریایی محیط غنی‌سازی باشد که به طور مستقیم درصد بقا را (Hochachka and Sowero, 1984; Anger, 2001) تحت‌تاثیر قرار می دهد.

طول کل ناپلی *آرتمیا فرانسیسکانا* با افزایش مدت زمان غنی سازی، به طور معنی داری افزایش

یافت که این یک امر بدیهی است. پس از تیمار شاهد، کمترین رشد طولی ناپلی در تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی با غلظت ۰/۱ گرم در لیتر به مدت ۶ ساعت غنی سازی دیده شد (P> ۰/۰۵). ناپلی آرتمیا با سایز کوچک در تغذیه لارو ماهیان دریایی، میگو و ماهیان زینتی که معمولاً دارای سایز دهانی کوچکی هستند (Figueiredo *et al.*, 2009) از اهمیت خاصی برخوردار است. لذا اگر تکنیک غنی سازی بتواند ناپلی غنی شده با سایز کوچک فراهم آورد مزیت آن تکنیک محسوب می شود. ولی در صورتی که هدف از غنی سازی استفاده از ناپلی برای ماهیان خاویاری و اکثر ماهیان آب شیرین که دهان نسبتاً بزرگی دارند باشد، سایز بزرگتر ناپلی نه تنها پارامتر منفی محسوب نمی شود بلکه محققان مختلف، استفاده از ناپلی بزرگ با میزان بیشتر انرژی را توصیه نموده‌اند زیرا هر گونه هدف انرژی کمتری را برای صید تعداد کمتر طعمه صرف می‌کند تا نیاز انرژی‌اش برطرف شود (Narciso, 2000). با محاسبه ضریب همبستگی پیرسون (۰/۵۲۰-) در این مطالعه ، این نتیجه گرفته شد که بقا و طول کل با هم رابطه معکوس دارند بنابراین، افزایش رشد همزمان با کاهش درصد بقا در این تیمارها قابل توجیه می باشد (P<۰/۰۱).

میزان اسیدهای چرب، خصوصاً اسیدهای چرب ضروری طعمه برای پرورش موفق لارو آبزیان (Monroig *et al.*, 2006) از اهمیت خاصی برخوردار است. میزان اسیدهای چرب در ناپلی *آرتمیا فرانسیسکا* غنی شده به دلیل غنی سازی تغییر می کند (Han *et al.*, 2000, 2001). *آرتمیا فرانسیسکانا* تازه تخم گشایی شده میزان نسبتاً بالایی از ایکوزاپنتانوئیک اسید و میزان کمتری DHA و ARA در نسبت های (ARA: ۱ EPA: ۲/۲۰۱ DHA: ۰/۵۵۳) دارد که این نتایج مشابه مطالعات دیگر محققان است (Coutteau and Mourente, 1997; Han *et al.*, 2001; Narciso and Morais, 2001; Figueiredo *et al.*, 2009).

اگر هدف غنی سازی با اسیدهای چرب استفاده از ناپلی غنی شده برای لارو ماهیان دریایی باشد، برای این منظور از امولسیون اسیدهای چرب یا روغن کبد ماهی برای غنی سازی استفاده می شود ولی در صورتی که هدف غنی سازی استفاده از ناپلی غنی شده برای تغذیه لارو ماهیان آب شیرین و یا لب شور (نظیر ماهیان خاویاری) باشد، افزایش میزان اسیدهای چرب ۱۸ کربنه لینولئیک اسید (LA) و لینولنیک اسید (ALA) نیازهای آن ها را تامین می نماید (Yone, 1978; Kanazawa, 1985; Noori *et al.*, 2011). در این مطالعه با توجه به اینکه از روغن گیاهی کانولا برای غنی سازی استفاده شد، عمدتاً بهبود غلظت همین اسیدهای چرب با هدف آتی استفاده از چنین آرتمیای غنی شده در تغذیه لارو ماهیان آب شیرین و لب شور مد نظر قرار گرفت و نتایج حاصله نیز در این راستا بود.

نتایج این تحقیق نشان داد که فرآیند غنی سازی ناپلی *آرتمیا فرانسیسکانا* با روغن کانولا نتوانست باعث افزایش میزان اسیدهای چرب ARA، EPA و DHA شود (جدول ۳) و بیشترین مقدار این اسیدهای چرب در تیمار شاهد (آرتمیای غنی نشده) دیده شد که این می تواند به دلیل فقدان این اسیدهای چرب در روغن کانولا باشد. میزان APA و EPA به صورت نامنظمی با افزایش مدت زمان غنی سازی کاهش یا افزایش می یابند که به ترتیب می تواند به دلیل مصرف آن ها یا تبدیل دیگر اسیدهای چرب به این اسیدهای چرب باشد.

جدول ۳. میزان اسیدهای چرب بلند زنجیر LA، ALA، ARA، EPA و DHA(میلی گرم در گرم وزن تر ناپلی) (Mean±S.E) *آرتمیا فرانسیسکانا* غنی شده تحت ۳ تراکم (ناپلی در لیتر) در ۳ زمان نمونه برداری (ساعت) و غلظت روغن کانولا (گرم در لیتر)

تراکم	زمان	غلظت	LA		ALA		ARA		EPA		DHA	
			میانگین	S.E	میانگین	S.E	میانگین	S.E	میانگین	S.E	میانگین	S.E
-	۰	۰	۰/۸۲۸^{p}	۰/۴۲۱	۰/۴۹۳^{g}	۰/۰۳۱	۰/۸۳۴^{a}	۰/۱۶۲	۱/۸۳۶^{a}	۰/۰۰۹	۰/۴۶۱^{ab}	۰/۴۰۴
۲۰۰۰۰۰	۶	۰/۱	۱/۴۵۶^{op}	۰/۰۴۹	۰/۵۱۰^{g}	۰/۰۳۸	۰/۸۰۰^{ab}	۰/۱۰۹	۱/۵۰۹^{ab}	۰/۱۷۹	۰/۶۷۹^{a}	۰/۱۳۱
		۰/۲	۲/۹۳۷$^{e-i}$	۰/۲۱۷	۰/۷۹۵^{bcd}	۰/۰۵۲	۰/۶۲۵^{bcd}	۰/۰۴۲	۱/۵۰۹^{ab}	۰/۰۸۵	۰/۰۳۷^{d}	۰/۰۰۹
		۰/۳	۲/۴۹۲$^{h-l}$	۰/۰۶۹	۰/۷۲۱^{cde}	۰/۰۱۷	۰/۵۹۷^{cde}	۰/۰۱۵	۱/۴۸۷^{ab}	۰/۰۳۱	۰/۰۳۴^{d}	۰/۰۱۴
	۱۲	۰/۱	۱/۵۳۷^{no}	۰/۲۰۵	۰/۵۱۴^{g}	۰/۰۴۷	۰/۴۹۹$^{c-g}$	۰/۰۱۴	۱/۲۶۷$^{b-f}$	۰/۰۲۵	۰/۰۲۸^{d}	۰/۰۰۹
		۰/۲	۱/۶۶۳^{mno}	۰/۲۰۰	۰/۵۸۴^{efg}	۰/۰۴۷	۰/۵۷۱$^{c-f}$	۰/۰۳۱	۱/۴۲۷^{bcd}	۰/۰۵۶	۰/۰۲۳^{d}	۰/۰۰۳
		۰/۳	۱/۷۸۶$^{l-o}$	۰/۲۷۱	۰/۵۹۴^{efg}	۰/۰۸۲	۰/۵۹۸^{cde}	۰/۰۸۲	۱/۴۴۸^{bc}	۰/۱۹۸	۰/۰۴۱^{d}	۰/۰۱۶
	۱۸	۰/۱	۲/۱۳۰$^{j-o}$	۰/۰۲۴	۰/۵۶۵^{fg}	۰/۰۲۳	۰/۴۹۴$^{c-g}$	۰/۰۳۳	۱/۱۸۳$^{b-f}$	۰/۰۷۶	۰/۰۲۹^{d}	۰/۰۰۷
		۰/۲	۲/۷۳۴$^{f-j}$	۰/۳۵۱	۰/۷۰۹^{def}	۰/۰۸۶	۰/۵۵۶$^{c-f}$	۰/۰۷۲	۱/۲۶۰$^{b-f}$	۰/۱۴۸	۰/۰۵۴^{d}	۰/۰۰۲
		۰/۳	۳/۵۷۰^{cde}	۰/۰۳۴	۰/۸۶۷^{bc}	۰/۰۱۹	۰/۶۵۹^{abc}	۰/۰۰۸	۱/۴۱۱^{bcd}	۰/۰۱۲	۰/۰۶۳^{d}	۰/۰۰۵
۱۰۰۰۰۰	۶	۰/۱	۲/۵۹۸$^{g-k}$	۰/۰۰۹	۰/۴۹۹^{g}	۰/۰۳۹	۰/۳۵۵^{g}	۰/۰۵۲	۰/۵۵۲^{i}	۰/۱۰۶	۰/۰۲۸^{d}	۰/۰۰۷
		۰/۲	۳/۱۴۲$^{d-h}$	۰/۰۷۷	۰/۷۲۹^{cde}	۰/۰۲۶	۰/۵۸۶^{cde}	۰/۰۰۵	۱/۱۳۰$^{b-g}$	۰/۰۳۹	۰/۰۴۳^{d}	۰/۰۰۳
		۰/۳	۳/۴۷۶^{cde}	۰/۱۳۵	۰/۸۳۳^{bcd}	۰/۰۳۲	۰/۶۷۱^{abc}	۰/۰۴۵	۱/۴۹۸^{ab}	۰/۰۹۷	۰/۰۷۶^{d}	۰/۰۰۴
	۱۲	۰/۱	۲/۲۰۳$^{j-n}$	۰/۱۳۸	۰/۵۳۲^{g}	۰/۰۳۸	۰/۴۱۷^{efg}	۰/۰۳۴	۰/۹۳۳$^{e-h}$	۰/۰۷۱	۰/۰۴۲^{d}	۰/۰۰۳
		۰/۲	۳/۲۴۲$^{d-g}$	۰/۱۷۷	۰/۷۵۸^{cd}	۰/۰۱۹	۰/۵۶۴$^{c-f}$	۰/۰۰۰۳	۱/۱۸۷$^{b-f}$	۰/۰۳۳	۰/۰۴۹^{d}	/۰۰۰۲
		۰/۳	۳/۰۵۹$^{d-h}$	۰/۰۶۳	۰/۶۹۷^{def}	۰/۰۱۷	۰/۴۸۹$^{c-g}$	۰/۰۰۷	۰/۹۹۸$^{e-h}$	۰/۰۱۶	۰/۰۳۹^{d}	۰/۰۰۱
	۱۸	۰/۱	۲/۰۸۴$^{j-o}$	۰/۳۰۲	۰/۴۹۷^{g}	۰/۰۶۴	۰/۳۷۹^{fg}	۰/۰۴۷	۰/۷۸۶^{ghi}	۰/۰۸۲	۰/۰۳۴^{d}	۰/۰۰۳
		۰/۲	۳/۱۲۰$^{d-h}$	۰/۰۷۷	۰/۷۳۲^{cde}	۰/۰۱۷	۰/۵۳۱$^{c-g}$	۰/۰۱۳	۱/۰۷۹$^{c-h}$	۰/۰۱۶	۰/۰۵۴^{d}	۰/۰۰۵
		۰/۳	۳/۵۲۸^{cde}	۰/۰۲۸	۰/۷۸۱^{cd}	۰/۰۱۵	۰/۵۵۶$^{c-f}$	۰/۰۰۸	۱/۰۶۲$^{d-h}$	۰/۰۳۷	۰/۰۵۶^{d}	۰/۰۱۳
۵۰۰۰۰	۶	۰/۱	۳/۳۴۴^{def}	۰/۴۳۰	۰/۵۱۱^{g}	۰/۰۳۰	۰/۳۸۱^{fg}	۰/۰۵۶	۰/۷۳۷^{hi}	۰/۱۹۳	۰/۳۸۹^{bc}	۰/۱۱۴
		۰/۲	۱/۹۱۷$^{k-o}$	۰/۰۹۷	۰/۴۷۲^{g}	۰/۰۱۲	۰/۴۶۲$^{d-g}$	۰/۰۱۱	۰/۹۲۸^{fgh}	۰/۰۶۶	۰/۰۷۸^{d}	۰/۰۰۱
		۰/۳	۲/۲۷۴$^{i-m}$	۰/۱۴۵	۰/۵۶۴^{fg}	۰/۰۳۷	۰/۵۶۰$^{c-f}$	۰/۰۴۱	۱/۱۴۴$^{b-g}$	۰/۰۹۱	۰/۱۱۱^{cd}	۰/۰۱۰
	۱۲	۰/۱	۲/۱۲۵$^{j-o}$	۰/۰۸۳	۰/۵۳۳^{g}	۰/۰۱۴	۰/۴۵۹$^{d-g}$	۰/۰۲۰	۰/۹۷۱$^{e-h}$	۰/۰۲۵	۰/۰۷۴^{d}	۰/۰۰۹
		۰/۲	۲/۵۲۳$^{g-k}$	۰/۴۰۴	۰/۵۹۸^{efg}	۰/۱۱۴	۰/۴۹۲$^{c-g}$	۰/۱۱۵	۱/۰۲۱$^{e-h}$	۰/۲۴۸	۰/۰۷۴^{d}	۰/۰۲۲
		۰/۳	۴/۰۷۲^{bc}	۰/۳۳۲	۰/۸۶۲^{bc}	۰/۰۵۶	۰/۶۲۰^{bcd}	۰/۰۰۳	۱/۱۶۱$^{b-f}$	۰/۰۳۱	۰/۱۲۹^{cd}	۰/۰۰۶
	۱۸	۰/۱	۳/۷۱۲^{bcd}	۰/۰۸۸	۰/۸۱۴^{bcd}	۰/۰۵۱	۰/۵۵۶$^{c-f}$	۰/۰۳۸	۱/۰۹۷$^{c-h}$	۰/۱۴۱	۰/۰۸۵^{d}	۰/۰۱۴
		۰/۲	۴/۳۳۰^{b}	۰/۰۵۷	۰/۹۴۱^{ab}	۰/۰۲۴	۰/۶۵۱^{bcd}	۰/۰۵۹	۱/۲۶۲$^{b-f}$	۰/۱۴۳	۰/۰۹۸^{cd}	۰/۰۰۰۵
		۰/۳	۵/۴۱۱^{a}	۰/۳۹۵	۱/۰۶۶^{a}	۰/۰۱۴	۰/۷۹۳^{ab}	۰/۰۳۵	۱/۳۰۹$^{b-e}$	۰/۱۷۲	۰/۲۳۹^{bcd}	۰/۰۷۸

تذکر۱: حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد.

تذکر ۲: در صورتی که تعداد حروف معنی دار بیش از سه تا باشد، اولین و آخرین حرف معنی دار ذکر شده است.

زمانی‌که تغذیه ماهی با روغن های گیاهی از جمله کانولا، سویا، برزک، نخل و زیتون صورت می گیرد به دلیل تجمع C20:3n-6 در درون بدن ماهی میزان ARA کاهش(Bell *et al*., 1991, 1993) می یابد، شاید در ناپلی غنی شده با روغن کانولا نیز همین اتفاق بیفتد زیرا میزان ARA در اکثر تیمارهای ناپلی غنی شده کمتر از ناپلی غنی نشده بود ($P<۰/۰۵$).

بیشترین میزان لینولئیک اسید و لینولنیک اسید در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی دیده شد که با میزان لینولئیک اسید و لینولنیک اسید در تیمار شاهد (آرتمیا غنی نشده) اختلاف معنی دار دارند ($P<۰/۰۵$) و به طور قابل توجهی بیشتر از آن ها هستند. در این مطالعه میزان LA از ALA بیشتر بود که برای تغذیه ماهیان آب شیرین بهتر است، چرا که قادر به تبدیل LA به ARA هستند و افزایش ARA باعث افزایش رشد و بقا و مقاومت نسبت به استرس، کیفیت بهتر تولید تخم، اسپرم و لارو و تنظیم عملکرد سیستم ایمنی می شود (Bell and Sargent, 2003).

جدول ۴. گروه های اسیدهای چرب (TFA ،PUFA ، MUFA ،SFA) *آرتمیا فرانسیسکانا* غنی شده (میلی گرم در گرم وزن تر ناپلی) (Mean±S.E) تحت ۳ تراکم (ناپلیوس در لیتر)، سه غلظت روغن کانولا (گرم در لیتر) و در ۳ مدت زمان غنی سازی (ساعت)

تراکم	زمان	غلظت	SFA		MUFA		PUFA		TFA	
			میانگین	S.E	میانگین	S.E	میانگین	S.E	میانگین	S.E
_	۰	۰	۳/۷۰۶^{ab}	۰/۷۶۲	۵/۹۳۵^{lm}	۰/۵۹۷	۴/۵۲۳$^{g-k}$	۱/۱۳۶	۱۴/۱۶۴$^{h-l}$	۲/۴۹۵
۲۰۰۰۰۰	۶	۰/۱	۳/۴۶۶$^{a-d}$	۰/۴۹۷	۶/۰۲۲^{lm}	۰/۵۴۸	۵/۰۶۰$^{e-k}$	۰/۵۴۲	۱۴/۵۴۹$^{g-l}$	۱/۵۸۷
		۰/۲	۳/۰۹۲$^{a-f}$	۰/۱۸۳	۸/۷۴۹$^{c-f}$	۰/۵۹۹	۵/۹۰۱$^{c-g}$	۰/۴۱۳	۱۷/۷۴۲$^{b-h}$	۱/۱۹۶
		۰/۳	۲/۹۴۰$^{a-f}$	۰/۰۰۶	۷/۸۶۶$^{e-j}$	۰/۱۳۸	۵/۳۳۱$^{d-j}$	۰/۱۴۸	۱۶/۱۳۷$^{d-k}$	۰/۲۹۱
	۱۲	۰/۱	۲/۵۵۹$^{d-g}$	۰/۰۳۸	۵/۸۵۶^{m}	۰/۴۳۸	۳/۹۲۰^{jk}	۰/۲۰۷	۱۲/۳۳۶^{kl}	۰/۶۰۷
		۰/۲	۲/۴۹۲^{efg}	۰/۱۸۰	۶/۳۸۲$^{j-m}$	۰/۵۱۸	۴/۲۶۹^{ijk}	۰/۳۳۸	۱۳/۱۴۳^{jkl}	۱/۰۳۷
		۰/۳	۲/۵۲۲$^{d-g}$	۰/۳۲۸	۶/۶۲۶$^{i-m}$	۰/۸۶۵	۴/۴۶۶$^{h-k}$	۰/۶۴۸	۱۳/۶۱۳^{jkl}	۱/۸۴۱
	۱۸	۰/۱	۳/۱۱۵$^{a-f}$	۰/۶۷۵	۶/۷۷۲$^{i-m}$	۰/۰۱۲	۴/۴۸۱$^{g-k}$	۰/۱۹۵	۱۴/۳۶۸$^{g-l}$	۰/۴۶۸
		۰/۲	۲/۳۰۹^{fg}	۰/۲۰۰	۷/۵۶۴$^{f-l}$	۰/۸۵۲	۵/۳۱۳$^{d-j}$	۰/۶۵۹	۱۵/۱۸۶$^{f-k}$	۱/۷۱۱
		۰/۳	۲/۷۷۵$^{b-f}$	۰/۰۵۴	۹/۳۳۵$^{b-e}$	۰/۰۵۰	۶/۵۷۰^{bcd}	۰/۰۶۹	۱۸/۶۷۹$^{b-f}$	۰/۱۷۳
۱۰۰۰۰۰	۶	۰/۱	۳/۰۳۰$^{a-f}$	۰/۰۵۱	۸/۵۹۷$^{c-g}$	۰/۰۵۹	۴/۰۳۲^{jk}	۰/۲۱۳	۱۵/۶۵۹$^{e-k}$	۰/۳۲۳
		۰/۲	۳/۶۴۱^{abc}	۰/۰۱۰	۹/۹۳۱^{bc}	۰/۱۱۵۲	۵/۶۲۹$^{c-i}$	۰/۱۴۱	۱۹/۲۰۰$^{b-e}$	۰/۰۲۱
		۰/۳	۳/۷۶۱^{a}	۰/۱۰۳	۹/۹۱۴^{bcd}	۰/۳۹۱	۶/۸۱۹^{bc}	۰/۳۰۱	۲۰/۱۹۳^{bc}	۰/۷۹۴
	۱۲	۰/۱	۲/۳۱۱^{fg}	۰/۱۷۲	۶/۰۶۶^{klm}	۰/۴۶۷	۴/۲۷۷^{ijk}	۰/۲۸۴	۱۲/۶۵۴^{kl}	۰/۹۲۳
		۰/۲	۲/۸۹۹$^{a-f}$	۰/۰۴۰	۸/۸۳۰$^{c-f}$	۰/۴۲۶	۵/۸۰۰$^{c-h}$	۰/۱۶۴	۱۷/۵۲۹$^{b-i}$	۰/۶۳۰
		۰/۳	۲/۵۷۹$^{d-g}$	۰/۰۶۹	۸/۲۳۷$^{d-i}$	۰/۲۷۶	۵/۳۱۴$^{d-j}$	۰/۰۷۳	۱۶/۱۲۹$^{d-k}$	۰/۴۱۸
	۱۸	۰/۱	۱/۷۴۷^{g}	۰/۱۱۲	۵/۵۵۷^{m}	۰/۶۳۸	۳/۷۸۰^{k}	۰/۴۹۹	۱۱/۰۸۴^{l}	۱/۲۵۰
		۰/۲	۲/۳۱۱^{fg}	۰/۰۶۲	۷/۷۳۳$^{e-k}$	۰/۱۶۹	۵/۶۰۰$^{c-i}$	۰/۱۴۷	۱۵/۶۴۴$^{e-k}$	۰/۳۷۸
		۰/۳	۲/۴۲۷^{efg}	۰/۰۸۶	۸/۴۳۲$^{c-h}$	۰/۱۶۴	۶/۰۲۲$^{b-f}$	۰/۱۳۹	۱۶/۸۸۰$^{c-j}$	۰/۳۸۹
۵۰۰۰۰	۶	۰/۱	۳/۳۵۰$^{a-e}$	۰/۲۷۴	۶/۶۷۰$^{i-m}$	۰/۰۰۶	۵/۵۲۷$^{c-i}$	۰/۳۰۵	۱۵/۵۴۶$^{e-k}$	۰/۵۷۲
		۰/۲	۲/۶۶۶$^{d-g}$	۰/۲۷۹	۶/۴۷۵$^{j-m}$	۰/۴۷۴	۳/۸۸۲^{k}	۰/۰۳۲	۱۳/۰۲۳^{kl}	۰/۷۸۶
		۰/۳	۲/۷۷۳$^{b-f}$	۰/۰۷۶	۷/۰۷۶$^{g-m}$	۰/۳۳۲	۴/۷۰۴$^{f-k}$	۰/۳۲۵	۱۴/۵۵۳$^{g-l}$	۰/۷۳۳
	۱۲	۰/۱	۲/۳۰۰^{fg}	۰/۱۴۵	۶/۲۱۸$^{j-m}$	۰/۲۵۷	۴/۲۰۱^{ijk}	۰/۱۵۴	۱۲/۷۱۹^{kl}	۰/۵۵۶
		۰/۲	۲/۲۷۳^{fg}	۰/۴۷۴	۶/۹۰۳$^{h-m}$	۱/۲۷۹	۴/۷۳۳$^{f-k}$	۰/۹۲۸	۱۳/۹۹۰$^{i-l}$	۲/۶۸۱
		۰/۳	۳/۰۶۶$^{a-f}$	۰/۱۵۳	۹/۸۸۳^{bcd}	۰/۵۷۴	۶/۸۶۹^{bc}	۰/۳۷۹	۱۹/۸۱۸^{bcd}	۱/۱۰۵
	۱۸	۰/۱	۲/۷۲۲$^{c-f}$	۰/۱۲۸	۹/۱۳۵$^{b-f}$	۰/۵۵۵	۶/۳۰۱$^{b-e}$	۰/۳۰۵	۱۸/۱۵۷$^{b-g}$	۰/۹۸۸
		۰/۲	۳/۱۲۱$^{a-f}$	۰/۰۱۲	۱۰/۶۷۷^{b}	۰/۱۸۹	۷/۳۰۵^{b}	۰/۱۹۲	۲۱/۱۰۳^{b}	۰/۳۹۵
		۰/۳	۳/۷۲۲^{a}	۰/۳۱۰	۱۲/۶۸۵^{a}	۰/۳۷۳	۸/۸۷۹^{a}	۰/۲۸۴	۲۵/۲۸۶^{a}	۰/۹۶۷

تذکر۱: حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد.

تذکر ۲: در صورتی که تعداد حروف معنی دار بیش از سه تا باشد، اولین و آخرین حرف معنی دار ذکر شده است.

جدول ۵. گروه های اسیدهای چرب PUFA(n-6) و PUFA(n-3) *آرتمیا فرانسیسکانا* غنی شده (میلی گرم در گرم وزن تر ناپلی) (Mean±S.E) تحت ۳ تراکم (ناپلیوس در لیتر)، سه غلظت روغن کانولا (گرم در لیتر) و در ۳ مدت زمان غنی سازی (ساعت)

تراکم	زمان	غلظت	(n-6)PUFA		(n-3)PUFA	
			میانگین	S.E	میانگین	S.E
_	۰	۰	۱/۷۳۲^{l}	۰/۶۵۲	۲/۷۹۱^{a}	۰/۴۸۴
۲۰۰۰۰۰	۶	۰/۱	۲/۳۶۲^{jkl}	۰/۱۷۷	۲/۶۹۸^{ab}	۰/۳۶۵
		۰/۲	۳/۵۶۱$^{d-h}$	۰/۲۵۸	۲/۳۴۰$^{a-e}$	۰/۱۵۵
		۰/۳	۳/۰۸۹$^{f-j}$	۰/۰۸۵	۲/۲۴۲$^{a-g}$	۰/۰۶۳
	۱۲	۰/۱	۲/۰۳۷^{kl}	۰/۲۱۹	۱/۸۸۳$^{e-j}$	۰/۰۱۲
		۰/۲	۲/۲۳۴^{jkl}	۰/۲۳۱	۲/۰۳۴$^{d-i}$	۰/۱۰۷
		۰/۳	۲/۳۸۳^{jkl}	۰/۳۵۲	۲/۰۸۳$^{c-i}$	۰/۲۹۶
	۱۸	۰/۱	۲/۶۲۳$^{i-l}$	۰/۰۰۹	۱/۸۵۸$^{e-j}$	۰/۱۸۶
		۰/۲	۳/۲۹۰$^{e-i}$	۰/۴۲۲	۲/۰۲۳$^{d-i}$	۰/۲۳۶
		۰/۳	۴/۲۲۹^{bcd}	۰/۰۴۳	۲/۳۴۰$^{a-e}$	۰/۰۲۶
۱۰۰۰۰۰	۶	۰/۱	۲/۹۵۳$^{g-j}$	۰/۰۶۱	۱/۰۷۹^{k}	۰/۱۵۲
		۰/۲	۳/۷۲۷$^{d-h}$	۰/۰۷۲	۱/۹۰۲$^{e-j}$	۰/۰۶۹
		۰/۳	۴/۱۴۶^{cde}	۰/۱۸۰	۲/۶۷۲^{abc}	۰/۱۲۰
	۱۲	۰/۱	۲/۶۳۵^{ijk}	۰/۱۸۷	۱/۶۴۱$^{g-k}$	۰/۰۹۷
		۰/۲	۳/۸۰۶$^{d-g}$	/۱۷۸	۱/۹۹۴$^{e-i}$	۰/۰۱۴
		۰/۳	۳/۵۴۸$^{d-h}$	۰/۰۷۰	۱/۷۶۵$^{e-j}$	۰/۰۰۳
	۱۸	۰/۱	۲/۴۶۳$^{i-l}$	۰/۳۵۰	۱/۳۱۷^{jk}	۰/۱۴۹
		۰/۲	۳/۶۸۵$^{d-h}$	۰/۰۹۳	۱/۹۱۵$^{e-j}$	۰/۰۵۴
		۰/۳	۴/۱۰۲^{cde}	۰/۰۵۳	۱/۹۲۰$^{e-j}$	۰/۰۸۶
۵۰۰۰۰	۶	۰/۱	۳/۸۶۵$^{c-f}$	۰/۴۱۶	۱/۶۶۲$^{g-k}$	۰/۱۱۲
		۰/۲	۲/۴۰۳$^{i-l}$	۰/۰۸۷	۱/۴۷۹^{ijk}	۰/۰۵۵
		۰/۳	۲/۸۸۵$^{h-k}$	۰/۱۸۶	۱/۸۱۹$^{e-j}$	۰/۱۳۸
	۱۲	۰/۱	۲/۶۲۳$^{i-l}$	۰/۱۰۵	۱/۵۷۸$^{h-k}$	۰/۰۴۹
		۰/۲	۳/۰۳۹$^{f-j}$	۰/۵۴۴	۱/۶۹۴$^{f-j}$	۰/۳۸۴
		۰/۳	۴/۷۱۶^{bc}	۰/۳۵۹	۲/۱۵۳$^{b-h}$	۰/۰۱۹
	۱۸	۰/۱	۴/۳۰۵^{bcd}	۰/۱۲۷	۱/۹۹۶$^{e-i}$	۰/۱۷۸
		۰/۲	۵/۰۰۴^{b}	۰/۰۲۵	۲/۳۰۱$^{a-f}$	۰/۱۶۸
		۰/۳	۶/۲۶۵^{a}	۰/۳۶۵	۲/۶۱۳$^{a-d}$	۰/۰۸۱

تذکر ۱: حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار می باشد.

تذکر ۲: در صورتی که تعداد حروف معنی دار بیش از سه تا باشد، اولین و آخرین حرف معنی دار ذکر شده است.

بیشترین میزان PUFA (n-6) نیز در تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر روغن به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی دیده شد که با میزان آن در تیمار شاهد (آرتمیا غنی نشده) اختلاف معنادار دارد (P<۰/۰۵) و به طور قابل توجهی بیشتر از آن است ولی بیشترین میزان PUFA (n-3) در تیمار شاهد دیده شد که با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر با غلظت روغن ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی اختلاف معنی دار نداشت (P>۰/۰۵).

بیشترین میزان SFA، MUFA، PUFA و TFA نیز در تیمار با تراکم ۵۰۰۰۰ ناپلی در لیتر با

غلظت روغن ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی دیده شد که البته از لحاظ بیشترین میزان SFA با بعضی از تیمارها از جمله تیمار شاهد اختلاف معنی دار نداشت (P>۰/۰۵) ولی از لحاظ میزان MUFA، PUFA و TFA با تیمار شاهد اختلاف معنی دار داشت (P<۰/۰۵).

با توجه به نتایج این تحقیق می توان گفت که بهترین تیمار به منظور غنی سازی ناپلی *آرتمیا فرانسیسکانا* تحت تراکم ۵۰۰۰۰ با غلظت ۰/۳ گرم در لیتر به مدت ۱۸ ساعت غنی سازی می باشد که بیشترین میزان LA، ALA و ARA را در بین تیمارها دارد، همچنین بهترین تیمار از لحاظ میزان SFA، MUFA، PUFA، TFA، (n-6)PUFA و (n-3)PUFA نیز می باشد. با توجه به اینکه هدف ما ارتقای میزان اسیدهای چرب ناپلی بود بنابراین برای انتخاب بهترین تیمار اسیدهای چرب مد نظر قرار گرفتند که مقدار بقا در این تیمار ۷۷/۸۷٪ و میزان طول کل ۰/۸۱ میلی متر است که برای اندازه دهان ماهیان لب شور و آب شیرین مناسب است.

آرتمیا تا زمانی که روده اش از ذرات غذایی پر نشود به بلعیدن این ذرات ادامه می‌دهد بنابراین آرتمیاهای بزرگتر، با اندازه بزرگتر مجرای گوارشی، میزان بیشتری از اسیدهای چرب را خورده‌اند. بنابراین شرایطی که باعث افزایش طول کل ناپلی می شود ممکن است میزان این اسیدهای چرب را نیز افزایش دهد (Figueiredo *et al.*, 2009). میزان دسترسی ناپلیوس ها به ذرات غذایی در این تیمار به دلیل تراکم کمتر ناپلیوس ها و حداکثر غلظت روغن کانولا و مدت زمان غنی سازی بیشتر بوده است، بنابراین بیشترین میزان اسیدهای چرب موجود در روغن کانولا را دارد که این با نتایج Figueiredo و همکاران در سال ۲۰۰۹ موافق می باشد.

منابع

1. Agh, N. 2002. Survey on biology and ecology of *Artemia urmiana*. Final report of National research project, Iranian Organization for Scientific and Technological Research. 150p.
2. Akbari, P., Hosseini, S.A., Imanpoor, M.R., Sodagar, M., Shaluei, F. 2008. Survey of effect of *Artemia urmiana* nauplii enriched with long-chain unsaturated fatty acids and vitamin C on resistance to environmental stress, temperature and hypoxia, in rainbow trout larvae. *Iranian Journal of Biology*, 21(4): 600-610.
3. Anger, K., 2001. The biology of decapod crustacean larvae. In: Vonk, R. (Eds.), Crustacean Issues, vol. 14. A. A. Balkema Publishers, Lisse. 419 p.
4. Bell, J.G., Dick, J.R., McVicar, A.H., Sargent, J.R., Thompson, K.D., 1993. Dietary sunflower, linseed and fish oils affect phospholipid fatty acid composition, development of cardiac lesions, phospholipase activity and eicosanoid production in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prostaglandins, Leukot. Essential Fatty Acids 49*: 665–673.
5. Bell, J.G., McVicar, A.H., Park, M.T., Sargent, J.R., 1991. High dietary linoleic acid affects fatty acid compositions of individual phospholipids from tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar*): association with stress susceptibility and cardiac lesion. *Journal of Nutrition* 121: 1163– 1172.
6. Bell, J.G., Sargent, J.R. 2003. Arachidonic acid in aquaculture feeds and future opportunities: current status. *Aquaculture* 218: 491–499.
7. Coutteau, P.,Mourente, G., 1997. Lipid classes and their content of n−3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in Artemia franciscana after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. *Marine Biology* 130: 81–91.
8. Figueiredo, J., Woesik, R.v., Lin, J., Narciso, L., 2009. *Artemia franciscana* enrichment model — How to keep

them small, rich and alive? *Aquaculture* 294: 212-220.

9. Girri, S.S., Sahoo, S.K., SHU, B.B., Sahu, A.K., Mohanty, S.n., Mohanty, P.k and Ayyappan, S., 2002. Larval survival and growth in Wallagoattu (Bloch and Schneider): effects of light. Photoperiod and feeding regimes. *Aquaculture* 213: 157-161.
10. Gomez-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J.F., 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* 191: 259–270.
11. Hamre, K., Harboe, T., 2008. Artemia enriched with high n-3 HUFA may give a large improvement in performance of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. Aquaculture 277: 239-243.
12. Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P., 2000. Enrichment strategies for Artemia using emulsions providing different levels of n−3 highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture* 183: 335–347.
13. Han, K., Geurden, I., Sorgeloos, P., 2001. Fatty acid changes in enriched and subsequently starved *Artemia franciscana* nauplii enriched with different essential fatty acids. *Aquaculture* 199: 93–105.
14. Hochachka, P.W., Somero, G.N., 1984. Temperature adaptation. In: Hochachka, P.W., Somero, G.N. (Eds.), Biochemical adaptation. In University Press, Princeton, New Jersey, USA, 355–449p.
15. Kanazawa, A., 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. In: Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (Eds.), *Nutrition and Feeding in Fish. Academic Press*, *London*, 281–298p.
16. Kim, J., Massee, K.C., Hardy, R. W., 1996. Adult Artemia as food for first feeding coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).*Aquaculture* 144: 277-226.
17. Lepage, G. and Roy, C.C., 1984. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. Journal of Lipid Research, Volume 25, 1984, Notes on Methodology, 1391-1396p.
18. Monroig, O., Navarro, J.C., Amat, F., González, P., Bermejo, A., Hontoria, F., 2006. Enrichment of Artemia nauplii in essential fatty acids with different types of liposomes and their use in the rearing of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 257: 382–392.
19. Narciso, L., 2000. Biologia e Cultivo de *Artemia sp*. (Crustacea, Branchiopoda): sua Utilização em Aquacultura. Prémio do Mar Rei D. Carlos 1998. Câmara Municipal de Cascais. 94 p.
20. Narciso, L., Morais, S., 2001. Fatty acid profile of *Palaemon serratus* (Palaemonidae) eggs and larvae during embryonic and larval development using different live diets. *Journal of Crustacean Biology* 21: 566–574.
21. Noori, F., Takami, G.A., Van Speybroeck, M., Van Stappen, G., SHiri-Harzevili, A-R., Sorgeloos, P. 2011. Feeding *Acipenser persicus* and Huso huso larvae with *Artemia urmiana* nauplii enriched with highly unsaturated fatty acids and vitamin C: effect on growth, survival and fatty acid profile. J. Appl. *Ichthyol*. 27 (2001), 781-786.
22. Sargent, J., Bell, G., McEvoy, Tocher, D.L., Estevez, A., 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177: 191–199.
23. Sorgeloos, P., Dehert, P., and Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, Artemia spp., in: marine fish larviculture. *Aquaculture* 200: 147-759.

24. Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Tackaert, W. and Versichele, D. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp Artemia in aquaculture. State University of Ghent, Belgium, 319p.

25. Van Stappen, G., 1996. Artemia. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture, Eds. Lavens, P. and Sorgeloos, P., FAO publications, 101-318.

26. Yone, Y., 1978. Essential fatty acid requirements of marine fish. Jpn. Soc. Sci. Fish. Dietary Lipids in Aquaculture. *Koseisha-Koseik-Abu, Tokyo*, 43– 59p.

Introducing standard protocol for enrichment of *Artemia franciscana* nauplii with Canola oil

Ghaderpour S[1]., Agh N [2]., Noori F[2]., Ahmadian E[1]
1-Department of Fisheries and Aquaculture, Faculty of Natural Sciences, Urmia University
2-Department of Aquaculture, Artemia and Aquatic Animals Research Institute, Urmia University
Corresponding author: srwa_gh@yahoo.com

Abstract

In this study, the effects of enriching *Artemia franciscana* nauplii with three concentrations of Canola oil at three density levels were evaluated on survival, total length and fatty acids of *Artemia franciscana* nauplii to determine the optimum concentration oil, density of nauplii and optimum time for maximum survival rate and fatty acids and minimum total length of nauplii. Cysts of *Artemia franciscana* were hatched according to the standard method (Sorgeloos, 1986). *Artemia franciscana* nauplii were then stocked at densities of 50000, 100000 and 200000 nauplii L^{-1} in 7 L cylindrical containers. Canola oil emulsion was added at concentrations of 0.1, 0.2 and 0.3 g L^{-1} at the beginning and 12 hours after the onset of enrichment. Nauplii were sampled at 6, 12 and 18 h after onset of enrichment for measuring the survival, total length and the concentration of fatty acid. The results of analysis showed that enrichment of *Artemia* with 0.3 g L^{-1} Canola oil at 50000 nauplii L^{-1} for 18 hours was considered as best treatment. *Artemia* nauplii enriched in this treatment had maximum linoleic and linoleic acids, highest survival and minimum total length.

Keywords: *Artemia franciscana*, enrichment, Canola oil, fatty acids.